Histologische Untersuchungen der Frühschäden des samenbildenden Epithels von Mäusen nach unterschiedlichen Ganzkörper-Röntgenbestrahlungen

Klaus Frahm

1963

Aus der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten
der Veterinärmedizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. H. J. Heidrich

- -

Histologische Untersuchungen der Frühschäden des samenbildenden Epithels von Mäusen nach unterschiedlichen Ganzkörper-Röntgenbestrahlungen

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

vorgelegt von
Klaus Frahm
Tierarzt aus Berlin

Berlin 1963
Journal-Nr. 435

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. H. J. Heidrich
Referent: Prof. Dr. H. J. Heidrich
Korreferent: Prof. Dr. K. Renk

Tag der mündlichen Prüfung: 24. 7. 1963

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A.	Einleitung	3
B.	Schrifttum	5
	1. Biochemische Veränderungen im lebenden Organismus als Folgeerscheinung der Einwirkung ionisierender Strahlen	5
	2. Möglichkeiten und Grenzen des Strahlenschutzes	7
	3. Strahleninduzierte Zellschäden	8
	4. Die Beeinflussung der männlichen und weiblichen Gonaden durch Röntgenstrahlen	11
	5. Die Frühschäden der männlichen Keimdrüse	13
	6. Restitution des strahlengeschädigten Keimepithels und zeitlicher Ablauf einer spermiogenetischen Reihe	17
C.	Eigene Untersuchungen	20
	1. Material und Methode	20
	2. Tabellarische Übersicht über die Untersuchungsergebnisse	26
	3. Besprechung der Ergebnisse	33
	4. Zusammenfassende Schlußbetrachtung	42
D.	Zusammenfassung	44
E.	Literaturverzeichnis	46
	Lebenslauf	

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548012_0093

A. E i n l e i t u n g

Als der Physiker Wilhelm Konrad RÖNTGEN im Jahre 1896 seine "X-Strahlen" entdeckt hatte, konnte er wahrscheinlich noch nicht voraussehen, welch' hervorragendes und unentbehrliches Hilfsmittel er der Medizin geschenkt hatte. Seit mehr als 60 Jahren sind die Röntgenstrahlen aus der klinischen Diagnostik nicht mehr wegzudenken, und auch in der Geschwulsttherapie werden sie nach wie vor verwandt.

Frühzeitig erkannte man, daß ihrer wahllosen Anwendung Grenzen gesetzt sind, weil organisches Gewebe durch sie zerstört wird. Die Franzosen BERGONIÉ und TRIBONDEAU formulierten bereits im Jahre 1906 ihre berühmte Grundregel, die noch heute die Grundlage der Krebsbehandlung darstellt: "Die Röntgenstrahlen wirken mit einer um so größeren Intensität auf die Zellen ein, je größer die reproduktive Aktivität derselben ist, je länger ihr karyokinetischer Werdegang andauert und je weniger ihrer Morphologie und ihre Funktionen definitiv festgelegt sind."

Neben der zerstörenden kommt den Röntgenstrahlen eine mutagene Wirkung zu, wodurch spätere Generationen eine Schädigung ihres Erbgutes erleiden können. Die Beeinflussung der Erbanlagen ist irreversibel, summiert sich voll über die ganze Generationszeit, hat fast ausschließlich biologisch negativen Charakter und zeigt von größeren Dosen bis zur Dosis Null eine strenge Dosisabhängigkeit. Es gibt demnach keine Schwellendosis (Toleranzdosis, Indifferenzdosis) welche unwirksam wäre (GRAUL und RAUSCH, 1959).

Diese Grundtatsachen ergeben sich zum größten Teil aus Tierexperimenten, aber man hat Anhaltspunkte dafür, daß sie für den Menschen ebenso zutreffen.

Um diesen unerwünschten Nebenwirkungen der Röntgenstrahlen begegnen zu können, befaßt man sich in der Medizin, in der Strahlenbiologie und in der Strahlengenetik eingehend mit den Problemen eines zuverlässigen Strahlenschutzes, der durch die Gefahr eines Atom-

krieges zur Existenzfrage für alle Menschen wird.

Will man den Organismus vor Strahlen schützen, so muß man deren Wirkungsweise im lebenden Gewebe genau studieren. Die Gonaden gehören zu den strahlensensibelsten Organen, und deshalb wurden auch viele Untersuchungen über die Strahlenbeeinflussung der männlichen und weiblichen Keimdrüse durchgeführt.

Auch die Veterinärmedizin bringt diesem Forschungsgebiet Interesse entgegen und versucht im Rahmen der gegebenen Möglichkeiten zur Erforschung der Strahlenschäden beizutragen.

Die vorliegende Arbeit hat die histologisch erfaßbaren Frühschäden, die nach einer Ganzkörperbestrahlung verschiedener Stärke am Keimepithel männlicher Mäuse auftreten, zum Thema und steht im Zusammenhang mit einer anderen Dissertation, die die durch Röntgenstrahlen verursachten Spätschäden am Rattenhoden untersucht (VELDEN, 1962)

B. Schrifttum

1. Biochemische Veränderungen im lebenden Organismus als Folgeerscheinung der Einwirkung ionisierender Strahlen

Die Kenntnisse der biochemischen Prozesse, die nach der Einwirkung ionisierender Strahlen im Organismus auftreten, sind noch sehr gering, weil man im Reagenzglasversuch gar nicht annähernd die Vielzahl der in der Zelle gekoppelt ablaufenden Stoffwechselvorgänge reproduzieren kann. Einige der wichtigsten Tatsachen seien nachfolgend aufgeführt:

Durch primäre Ionisierungsreaktionen entstehen in bestrahltem Wasser in Gegenwart von Sauerstoff freie OH- und H-Radikale, die unter H_2O_2-Bildung miteinander reagieren. H_2O_2 kann in bestimmten Fällen für Schäden im zellulären Bereich verantwortlich gemacht werden. Es gibt aber genügend Beispiele für Substanzen, die nicht H_2O_2-empfindlich sind, aber eine bemerkenswerte Strahlensensibilität besitzen. Außerdem ist zu bedenken, daß die Katalase, eines der potentesten und im Gewebe ubiquitär vorkommenden Enzyme, die Aktivität von H_2O_2 aufheben kann; es sei denn, die Peroxyde schädigen die Zelle, ehe sie zerstört werden, oder sie können ihre Wirkung entfalten, weil die Katalase vorher durch die Strahlen inaktiviert wurde (DALE, 1950).

FORSSBERG (1946) berichtet über alle Stufen der Strahlenempfindlichkeit, von vollständiger Stabilität des Enzyms Katalase nach Dosen von 100 000 r, bis zur deutlichen Inaktivierung nach Einwirkung von nur 5 - 10 r. Die Veränderungen traten nach ziemlich unbedeutenden Variationen in der Enzymlösung auf. Der Autor hält die Mitwirkung von Bestrahlungsprodukten des Wassers und der darin enthaltenen Gase für ausschlaggebend.

BARRON (1950) gelang die reversible Aktivitätshemmung von Thiol und Enzymen, wie zum Beispiel Hexokinase (Hefe), Adenosintriphosphatase (Myosin) und Succinoxydase (Muskel).

Durch Hinzufügen von Glutathion war es möglich, die Enzyme zu schützen.

Bei all' diesen Versuchen in vitro ist die Konzentration des betreffenden Ferments in der Lösung von Bedeutung.

Die Zahl der veränderten Moleküle bleibt bei verschiedenen Verdünnungen konstant, nicht aber ihr Prozentsatz. Konzentrierte Lösungen sind demnach strahlenresistent. Bei Carboxypeptidase zum Beispiel ist dieser "dilution effect" (nach DALE) bei 10^{-5}/ml erreicht (kritische Verdünnung) (FRITZ-NIGGLI, 1959).

Die Einwirkung ionisierender Strahlen auf das Eiweiß besteht in Denaturierung, Präzipitation, Viskositätsabfall und Veränderung im Absorptionsspektrum sowie in der Sedimentierungsgeschwindigkeit. Aminosäuren werden unter NH_3- und CO_2-Abgabe abgebaut. H_2S entsteht durch Bestrahlung wäßriger Lösungen von Cystein und Glutathion.

Trotz vieler eingehender Untersuchungen ist der eigentlich Mechanismus dieser Veränderungen noch unbekannt. Die wahrscheinlichste Deutung der Vorgänge gibt BARRON (1950). Er nimmt an, daß die Proteine indirekt über die Bestrahlungsprodukte des Wassers angegriffen werden, indem die -SH-Gruppen zu einer -S-S-Bindung oxydiert werden, wodurch es zur Polymerisation kommt.

Die Eiweißmoleküle werden verdickt, und es entsteht so zum Beispiel die Undurchsichtigkeit der Linse beim Strahlenkatarakt.

EULER und BELLOWS (1936) haben bewiesen, daß der Gehalt an Sulfhydrilgruppen im Linseneiweiß beim Strahlenkatarakt vermindert ist.

Denaturierung und Präzipitation der Eiweiße werden möglicherweise direkt durch Zerreißung der Wasserstoffbindungen bei Kollision mit ionisierenden Teilchen ausgelöst (FRITZ-NIGGLI, 1950; BARRON, 1950).

Hemmung der DNS-Synthese

EULER und HEVESY (1942) fanden eine Verzögerung der DNS-Bildung um eine halbe Stunde nach 1000 r in Jensen-Sarkomen der Ratte. Zwei Drittel der Hemmung fallen 2 Stunden nach der Strahleneinwirkung wieder weg.

Nach MITCHELL (1942) ist der Abfall des DNS-Gehaltes auf die Synthesehemmung dieser Verbindung im Zellkern zurückzuführen. Es häufen sich Ribonucleotide im Cytoplasma an, weil im Kern keine Reduktion zu Desoxyribonucleotiden stattfindet.

BACQ und ALEXANDER (1958) halten es für sehr wahrscheinlich, daß die Mitosehemmung und das verzögerte Eintreten der Zellteilungen nach der Bestrahlung mit der gehemmten DNS-Synthese gekoppelt sind.

Über eine Beeinflussung des Fettstoffwechsels berichten dieselben Autoren. Vier Stunden nach einer Dosis von 300 - 1000 r wurde ein Abfall des Blutcholesterinspiegels bei der Maus beobachtet, da die Resorption von Fett und auch von fettlöslichen Vitaminen gestört worden war.

Eine Aufspaltung der Kohlenhydrate soll nach WORSECK und HEMLEP (1957) dadurch entstehen, daß in den Zuckermolekülen die strahlenempfindlichen Carbonylgruppen angegriffen werden, wodurch sich in Gegenwart oxydativer, freier Radikale Polyhydroxylcarbonyle bilden, die eine destruktive Wirkung besonders auf die Polysaccharide entfalten. Ob diese aus in vitro-Versuchen gewonnenen Erkenntnisse für den Organismus Bedeutung haben, ist noch nicht geklärt. Bezüglich der Kohlenhydrate weiß man nur, daß Diabetiker gegen Röntgenstrahlen weniger empfindlich sind als gesunde Individuen. LATARJET (1957) erklärt dieses Phänomen damit, daß die Glucose bei der Bildung von H_2O_2 in bestrahltem Wasser als Puffersubstanz wirkt. Ebenso wie Glucose soll Vitamin E ein wirksamer Peroxydinhibitor sein.

2. Möglichkeiten und Grenzen des Strahlenschutzes

Der Strahlenschutz hat die Aufgabe, jede weitere Strahlenbelastung neben der natürlichen zu verhindern oder wenigstens die auf Grund von Forschungsergebnissen festgesetzten Höchstgrenzen einzuhalten.

Nach RAJEWSKY (1957) beträgt die international angenommene höchstzulässige Wochendosis bei beruflicher Strahlenbelastung 0,3 r, während der Mensch zeit seines Lebens einer natürlichen Strahlung von etwa 0,003 r pro Woche (das sind in 70 Jahren insgesamt etwa 7 - 10 r) ausgesetzt ist, wobei die Gamma-Strahlen die Hauptrolle spielen.
Dieses relativ enge Verhältnis von 1 : 100 nicht zu überschreiten, stellt an die Strahlenpraxis sehr große Anforderungen in bezug auf sorgfältiges und vorsichtiges Arbeiten.
Der Medizin und der Strahlenbiologie fällt nun die wichtige Aufgabe zu, Mittel und Wege zu finden, die den Menschen vor Strahleninsulten schützen können.

Mit der Entdeckung biochemischer Strahlenschutzmittel ist man diesem Problem schon sehr nahe gekommen. PATT und CHAPMAN (1949) gelang es erstmalig, Tiere durch eine prophylaktische Injektion von Thiol- beziehungsweise Sulfhydrilverbindungen (Cystein und Glutathion) vor tödlichen Röntgenstrahlendosen zu schützen. Die Vorarbeiten hatte BARRON schon sechs Jahre vorher geleistet, Ihm fiel die Ähnlichkeit der Wirkungsweise von Senfgas und Röntgenstrahlen auf. Beide rufen Leukopenie, haemorrhagische Erscheinungen, Mutationen und Mitosehemmung hervor. Da man bereits wußte, daß Senfgas mit Sulfhydrilgruppen reagiert, vermutete BARRON, daß eine der Wirkungen der Röntgenstrahlen darin bestehe, -SH-Gruppen zu zerstören. Wie bereits auf Seite 5 ausgeführt wurde, bestrahlte der Autor zum Beweis seiner Hypothese Enzyme, die zum Wirksamwerden die Gegenwart von -SH-Gruppen brauchen, und konnte eine Aktivitätshemmung derselben beobachten, die jedoch nach Zusatz von Glutathion verschwand. Setzte man diese Sulfhydril-Verbindung vor der Bestrahlung den Enzymen zu, so trat erst gar kein Wirkungsverlust auf.

Nach BACQ und ALEXANDER (1958) soll die Überlebensrate von Mäusen durch eine vor der Bestrahlung mit 700 r erfolgende intraperitonaeale Injektion von Cysteamin, das ebenfalls -SH-Gruppen enthält, von 3 % auf 93 % gehoben werden können.

Der große Nachteil all' dieser Substanzen ist, daß sie nur eine Wirkung entfalten, wenn sie v o r der Strahleneinwirkung appliziert werden; eine Therapie ist mit diesen Mitteln nicht möglich.

3. Strahleninduzierte Zellschäden

Es herrschen getrennte Auffassungen darüber, ob das Cytoplasma oder der Nucleus strahlensensibler sind.
DURYEE (1949) bestrahlte das Zellplasma von Froscheiern, aus denen er den Kern entfernt hatte und verbrachte diesen nach der Strahleneinwirkung wieder in das Zytoplasma. Der Nukleus zeigte alle charakteristischen Strahlenläsionen mit Ausnahme des Bruchs der Chromosomenfäden. Nach DURYEE entstehen toxische Spaltprodukte im Zytoplasma, die auf den Kern einwirken und in diesem Pyknose, Vakuolisierung und Fragmentierung hervorrufen. Derselbe Autor bestrahlte auch isolierte Zellkerne und sah erst bei 60 000 r Veränderungen.

EULER und HAHN (1946) kamen zum gleichen Ergebnis bei der Untersuchung von Zellkernen aus dem Kalbsthymus. Dosen von 2500 - 60 000r führten zu keinen physikalischen oder chemischen Veränderungen der Nukleoproteide.

Im Gegensatz zu DURYEE, EULER und HAHN sprechen BLOOM (1954) und HENSHAW (1938) den Kernveränderungen primäre Bedeutung zu.

Auch die Zellmembran wird durch die Bestrahlung in Mitleidenschaft gezogen. Setzt man eine Gewebekultur hohen Strahlendosen aus, so treten am Zellrand Bläschen auf, und die Formveränderungen der Membran, die amoeboiden Bewegungen gleichen, hören auf. In all' diesen Fällen gingen den Zellmembranveränderungen irreversible Kernschädigungen voran (BLOOM, 1954).
Ob die Zellorganellen ebenfalls Schädigungen davontragen, ist noch ungeklärt.

Will man die durch Strahleneinwirkung veränderte Zelle untersuchen, so muß man mit den normalen, unbeeinflußten Zellteilungsvorgängen vertraut sein.

Der heutigen Anschauung entsprechend gliedert sich der Ablauf der Mitose in vier Abschnitte (BACQ und ALEXANDER, 1958):

1. In der Prophase sind die Chromosomen bereits in zwei Chromatide aufgespalten, die sich aber erst in der Anaphase voneinander trennen. Sie verkürzen sich, nehmen spiralige Formen an und scheinen frei innerhalb des Zytoplasmas zu liegen, da die Kernmembran unsichtbar geworden ist.

2. In der Metaphase differenziert sich im Zellplasma ein spindelartiges Gerüst aus, das sich bis zu den beiden gegenüberliegenden Polen der Zelle erstreckt, in denen sich die Spindelfasern im Zentrosom vereinigen. In der Mitte der Spindel, quer zu deren Längsachse, formieren sich die Chromosomen in der sogenannten Äquatorialplatte. Die Anheftungsstelle der Chromosomen an den Fasern der Spindel wird als Zentromer bezeichnet.

3. Die Anaphase wird eingeleitet durch die in den Zentromeren beginnende Trennung der Chromatiden. Diese Teilung verläuft sehr rasch, fast explosionsartig. Anschließend wandern die Tochterchromosomen in entgegengesetzter Richtung den Polen zu.

4. In der Telophase bildet sich die Spindel zurück, die beiden neuentstandenen Zellkerne runden sich ab, und jeder wird von einer Membran umgeben. Das Zytoplasma wird durch eine neue Zellmembran in zwei Hälften aufgeteilt.

Die durch Röntgenstrahlen gestörte Mitose:

Die vielen Untersuchungen, die diesbezüglich angestellt wurden, führten zu unterschiedlichen Ergebnissen.

BLOOM (1954) fand in Gewebekulturen von Organen, deren Zellen normalerweise fortwährende Regeneration zeigen, nach Einwirkung von 200 - 800 r ein Sistieren fast sämtlicher mitotischer Aktivität, das eine halbe Stunde nach der Bestrahlung begann und etwa 15 Stunden andauerte. Einige Zellen beendeten, obwohl ihre Kerne Chromosomenschäden aufwiesen, die Teilung, aber sie schien länger zu dauern als im Normalfall.
CARLSON (1941), der ebenfalls mehrere hundert Röntgen auf Heuschrekkenneuroblasten einwirken ließ, stellte fest, daß die Zellen vorübergehend gehindert wurden, in eine Teilung einzutreten, aber diejenigen, die bereits mitten in der Mitose standen, wurden nicht gehindert sie zu beenden.
Nach NEBEL und MURPHY (1960) sollen 1000 r, lokal auf die Hoden appliziert, eine anhaltende Blockierung der ersten meiotischen Metaphase bewirken. Oftmals entstehen dann tetraploide Zellen, in denen vier haploide Chromosomensätze enthalten sind.

Aus den angeführten Beispielen ergibt sich, daß die Zellteilungen durch ionisierende Strahlen in verschiedener Weise beeinflußt werden können. Dabei spielen die Dosishöhe, der Zeitpunkt der Untersuchung sowie die rückschließende Bedeutung der Vorgänge eine wesentliche Rolle.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die Zellen, die sich im Ruhezustand befanden, als die Strahlen einwirkten, daran gehindert wurden, die Teilung zu beginnen. Das Ruhestadium wird also verlängert. Diejenigen Zellen, die bereits in den Mitosen waren, werden gehemmt oder sogar geschädigt, durchlaufen dennoch alle Stadien. Wirkt eine Dosis ein, die zur Vernichtung (Karyorrhexis oder Nekrose) der in der Teilung

stehenden Zellen führt, so sterben diese ab. Eine Sonderstellung scheint nach NEBEL und MURPHY (1960) das Keimepithel einzunehmen, in welchem die erste meiotische Teilung bis zur Metaphase weiterläuft und dann blockiert wird.
Nach LEA (1946), der seine Untersuchungen ebenso wie NEBEL und MURPHY (1960) am Keimepithel männlicher Mäuse durchführte, soll nach der Bestrahlung vorübergehend ein Ansteigen der mitotischen Aktivität zu beobachten sein, das darauf zurückzuführen sein soll, daß zwei Zellgruppen in die Teilung eintreten: Erstens die Zellen, die sich im Ruhestadium befanden und zweitens diejenigen, die sich in der frühen Prophase befanden, als die Strahlen einwirkten und deren weitere Entwicklung für ein paar Stunden aufgehalten worden war. Wenn die letzteren sich erholt haben, durchlaufen sie die Prophase langsamer als die erste Zellgruppe und werden von dieser eingeholt.

In Übereinstimmung mit LEA (1946) steht FRITZ-NIGGLI (1959). Auch SCHWARZ (1924) beobachtete ein Ansteigen der Mitosenzahl nach der Bestrahlung. Das Stadium der frühen Prophase ist demnach bezüglich der Mitosenhemmung sehr sensibel, während mittlere und späte Prophase, Anaphase und Telophase auch durch höhere Dosen kaum in ihrem Ablauf beeinflußt werden, obwohl sie alle Arten der Chromosomenschäden aufweisen können. Für die Bruchneigung der Chromosomen geben BACQ und ALEXANDER (1958) einen noch früheren Zeitpunkt an, nämlich das Ende des Ruhestadiums. In diesem Zeitraum findet nach Annahme der Genetiker die Verdoppelung der Chromosomen statt. Sichtbar werden die Chromosomenbrüche jedoch erst am Ende der Prophase. Wird die Zelle in der Prophase bestrahlt, so finden sich nur wenige Brüche. Die gebrochenen Chromosomen heilen mit oder ohne sichtbaren Defekt, aber in jedem Fall geht genetisches Material verloren (BLOOM, 1954).

4. Die Beeinflussung der männlichen und weiblichen Gonaden durch Röntgenstrahlen

Bei der Bestrahlung männlicher und weiblicher Individuen kann man beobachten, daß die Hoden und die Ovarien unterschiedliche Empfindlichkeit aufweisen. Ähnlich verhält es sich mit ihren Produkten, dem Samen und den Eizellen.
Beim Mann soll eine permanente Sterilität nach einer einmaligen Ganz-

körperbestrahlung mit einer Dosis von 600 r auftreten, während die Frau schon nach 300 r ihre Fertilität für immer einbüßen soll (SPEAR, 1953).
Es findet dann keine Ovulation mehr statt, und folglich wird auch die Produktion von Ovarialhormonen eingestellt, während in den männlichen Gonaden, selbst nach einer totalen Depopulation des Keimepithels, die Androgene in den Leydig'schen Zwischenzellen des Interstitiums weiter gebildet werden (BLOOM, 1954). Bezüglich der inneren Sekretion sind die Ovarien auf Grund ihres anatomischen Baues und ihrer Physiologie wesentlich strahlensensibler als die Hoden.

Es bestehen nach SPEAR (1953) auch große Abweichungen in der Empfindlichkeit der Keimzellen: die des Ovars sind sensibler als die entsprechenden Zellen des Hoden.
Schon eine einmalige Ganzkörperbestrahlung mit 170 r hemmt die Mitosen der Oogonien für Jahre und verhindert den Nachschub von differenzierten Keimzellenstadien. Der Schleimhautzyklus läuft zwar noch ein bis drei Monate weiter, aber dann ist dieser für 1 - 3 Jahre unterbrochen. Nach dieser Zeitspanne haben sich die primitiven Oogonien meistens erholt, und die Menses treten dann, zuerst in weiten Abständen, die sich jedoch graduell bis zur normalen Zeit verkürzen, wieder auf.

Nach demselben Autor werden die Mitosen der primitiven Spermatogonien im Hoden des Mannes durch eine einmalige Ganzkörperbestrahlung mit einer Dosis von 300 r für nur etwa drei Wochen gehemmt. Daran anschließend finden sie zu normaler Funktion zurück.

Die Reaktionen des Spermiums und der Eizelle auf eine Röntgenbestrahlung sind nach HOLLAENDER (1958) bei der Maus deutlich verschieden. Die Samenzelle erholt sich vom Strahlenschaden nicht. Es spielt deshalb für sie keine Rolle, ob die Dosis auf einmal oder fraktioniert eingestrahlt wird. Die Eizelle dagegen vermag mehrere kleine Strahlenmengen zu ertragen; sie besitzt demnach die Möglichkeit sich zu erholen.

5. Die Frühschäden der männlichen Keimdrüse

Die Literatur zu diesem Thema ist umfangreich und uneinheitlich, da die Autoren Ergebnisse veröffentlichen, die auf verschiedenen Tierarten und unterschiedlichen Bestrahlungsbedingungen basieren. Eine zusätzliche Schwierigkeit ergibt sich, wenn man die Frühschäden des Hodens besonders berücksichtigen will; denn die Grenze zwischen Früh- und Spätschäden läßt sich nur schwer ziehen und ist etwas willkürlich.
Nach SCHINZ und SLOTOPOLSKY (1925) spielt die Dosishöhe bei dieser Einteilung eine entscheidende Rolle, da eine totale Depopulation der Hodenkanälchen bis auf die Sertolizellen im allgemeinen zu den Spätschäden gezählt wird, aber schon nach fünf Tagen bei einer einmalig und lokal applizierten Strahlendosis von 18 000 r sichtbar werden kann. Von Frühschäden spricht man, wenn durch eine Strahlendosis Früheffekte aufgetreten sind, an die sich wieder eine Erholung anschließt. Die Grenze liegt nach Ansicht der beiden Autoren bei 2400 r (lokal auf das Skrotum appliziert), bis zu dieser Dosishöhe soll in Einzelfällen eine Restitution beobachtet worden sein, darüber hinaus jedoch nicht mehr.

Im Jahre 1903 wies ALBERS-SCHÖNBERG als erster auf die keimdrüsenschädigenden Einflüsse der Röntgenstrahlen hin: "Wenn man männliche Kaninchen oder Meerschweinchen längere Zeit einer intensiven Einwirkung von Röntgenstrahlen aussetzt, verlieren dieselben - es ist jedoch noch unentschieden, ob dauernd oder vorübergehend - die Fähigkeit sich fortzupflanzen. Das körperliche Wohlbefinden bleibt trotzdem ungestört. Bezüglich des Geschlechtstriebes und der Kopulationsfähigkeit unterscheiden sich diese Tiere nicht im geringsten von normalen, unbestrahlten Exemplaren. Diese infolge der Bestrahlung auftretende Sterilität ist durch Nekrospermie, welche nach einiger Zeit in absolute Azoospermie übergeht, bedingt."
FRIEBEN (1903), der diese Versuchstiere histologisch untersuchte, fand einen Schwund des Kanälchenepithels unter Bildung weiter Tubulihohlräume mit schmalem Saum kleiner, geschrumpfter Zellen, deren Protoplasma vielfach schleimig degeneriert erschien. Entzündungserscheinungen fehlten völlig, und am Stützgewebe hatten keine Veränderungen stattgefunden.

Diese Arbeiten von ALBERS-SCHÖNBERG und FRIEBEN gaben den Anstoß zu einer ausgedehnten Forschungsarbeit, die bis heute noch nicht annähernd abgeschlossen ist.
REGAUD und BLANC (1906) untersuchten erstmalig die Histogenese der durch die Röntgenstrahlen hervorgerufenen Veränderungen im Hoden und stellten fest, daß die Spermatogonien der Degeneration anheimfallen und sie allein eigentlich zugrunde gehen, während die übrigen Zellen des Samenepithels sich weiterentwickeln und ihr normales Ziel, die Umwandlung in Spermien, erreichen. Dieser Ablauf der Erscheinungen tritt jedoch nur nach mäßigen Dosen auf, während stärkere Dosen das ganze Keimepithel zerstören.

Andere Forscher, wie zum Beispiel SCHINZ und SLOTOPOLSKY (1925), HERTWIG (1938), FOGG und COWING (1951), SPEAR (1953), SHAVERS (1953), OAKBERG (1955), SPALDING, WELLNITZ und SCHWEITZER (1957), NEBEL und MURPHY (1960), bestätigen die extreme Strahlensensibilität der Spermatogonien mit der Einschränkung, daß diese nur für die aktiven Typ B-Spermatogonien mit dem geballten Chromatin zutrifft, die später von REGAUD auch "Krustentyp" genannt wurden.

Die teilungsinaktive Spermatogonienart (Typ A), die sich im Ruhestadium befindet und durch einen hellen, ovalen Kern ausgezeichnet ist, in welchem Chromosomenstrukturen kaum zu erkennen sind, wird (nach REGAUD) als "Staubspermatogonie" bezeichnet und ist in hohem Grade strahlenresistent.

Nach SPEAR (1953) ist für die größere Resistenz und Erholungskraft der primitiven Typ A-Spermatogonien die lange Ruheperiode dieser Zellen zwischen den Teilungen verantwortlich zu machen.

Entsprechend dem Grad ihrer Reife zeigen die übrigen Elemente des Keimepithels eine unterschiedliche Empfindlichkeit, die bei den Typ B-Spermatogonien am größten ist und über die Spermatozyten bis zu den Spermiden und Spermien abnimmt. Es ist bisher jedoch unbekannt, worauf diese unterschiedliche Empfindlichkeit der spermiogenetischen Zellen zurückzuführen ist (SCHINZ, 1958).

Im Gegensatz zu dieser allgemein akzeptierten Auffassung stehen ESCHENBRENNER, MILLER und LORENZ (1948), die behaupten, daß alle Keimzellen gleich empfindlich seien, da ihre Mitosen in gleichem Maße gehemmt werden.

Die zu dieser Fragestellung im Folgenden angeführten Untersuchungsergebnisse sind schwer vergleichbar, da die Versuchsanordnungen sehr unterschiedlich waren.
SCHINZ und SLOTOPOLSKY (1925) bestrahlten die Hoden von Kaninchen lokal mit Dosen zwischen 60 r und 30 000 r und beobachteten, daß nach 1200 r innerhalb von vier Tagen fast alle Spermatogonien verschwanden und die wenigen, die der Zerstörung entgangen waren, verloren ihre Teilungsfähigkeit. Bei einer Dosis von 270 r wurden 50 % der Spermatogonien vernichtet, während 60 r sie nicht zerstörten, sondern sie nur für zehn Tage an der Zellteilung hinderten.

Dieselben Autoren hatten im Jahr 1925 die Möglichkeit, die Früheffekte der Röntgenstrahlenwirkung am Hoden des Menschen gelegentlich der beidseitigen Kastration einiger rückfällig gewordener Sexualverbrecher zu studieren. Sie bestrahlten 12, 18, 36 und 90 Stunden vor der Operation jeweils den einen der beiden Hoden mit einer Dosis von 600 r während der andere unbestrahlt blieb und zur Kontrolle diente.

Bei der histologischen Untersuchung der Hoden ergab sich die erstaunliche Tatsache, daß sogar nach 90 Stunden, also nach knapp vier Tagen, an den Spermatogonien nicht einmal eine beginnende Degenerationserscheinung, sondern vielmehr normale Mitosen dieser Zellen wahrzunehmen waren.

Nach HELLER (1948) nimmt im Kaninchenhoden die Zahl der Spermatogonien drei bis fünf Tage nach einer Ganzkörperbestrahlung mit 800 r ab. Die meisten Tubuli enthalten nach neun Tagen außer einzelnen Spermatogonien nur eine verringerte Zahl von Spermatozyten, von denen einige geschädigt sind, sowie eine normale Anzahl von Spermiden und Spermien. Außerdem waren vielkernige und bizarr geformte Zellen vorhanden.

Eine Dosis von 600 r soll nach demselben Autor die gleiche Schädigung hervorrufen, nur mit dem Unterschied, daß weniger Kanälchen depopuliert werden und daß die Regeneration früher einsetzt als nach 800 r. Die Schäden im Kaninchenhoden nach 600 r sollen denen im Mäusetestikel nach 350 r gleichen.

Im Gegensatz dazu soll nach HERTWIG (1938) eine Ganzkörperbestrahlung mit 200 r im Mäusehoden die einzelnen Stadien in annähernd gleicher Zeit verschwinden und später wieder auftreten lassen wie eine Dosis

von 800 r. So sollen die Spermatogonien des Typ B sowie die Mitosen des Typ A bei beiden Dosen schon nach 24 Stunden fehlen, sie treten dann zusammen wieder zwischen dem 11. und 13. Tag auf. Die Dosis zwischen 200 r und 800 r scheint demnach keine so entscheidende Rolle im zeitlichen Ablauf der Schädigung und der Restitution zu spielen.

Die Ergebnisse von SHAVERS (1953), der Mäuse einer Ganzkörperbestrahlung von 500 r aussetzte, weichen erheblich von denen HERTWIGS ab. Er beobachtete zwar ebenfalls, daß nach 12 Stunden eine Hemmung fast aller Spermatogonienmitosen auftrat, aber eine drastische Reduktion der Typ B-Spermatogonien konnte er erst nach 12 Tagen wahrnehmen. Bei einer lokalen Bestrahlung des Skrotums mit 1005 r sollen nach 10 Tagen immer noch Typ B-Spermatogonien vorhanden sein.

In allen Arbeiten wird dem Schicksal der Typ B-Spermatogonien nach der Bestrahlung größte Aufmerksamkeit gewidmet, denn an diesen Zellen wirken sich die Strahlenschäden am schwerwiegendsten aus. Diese Tatsache wurde schon von REGAUD und BLANC (1906) erkannt und hat heute nach wie vor Gültigkeit. Die anderen Zellen des Keimepithels, die bis zur Spermide gegenüber Röntgenstrahlen eine abnehmende Empfindlichkeit zeigen, werden in der Mehrzahl ihre Zytogenese bis zur reifen Spermie beenden, die neben der Typ A-Spermatogonie und der Sertolizelle in hohem Grade strahlenresistent zu sein scheint. Die Widerstandsfähigkeit der reifen Spermie ist jedoch nicht konstant. Sie nimmt proportional zur Zeit ihres Verweilens im Nebenhoden ab (SPEAR, 1953).

Die Depopulation der Hodenkanälchen tritt also auf, weil die Röntgenstrahlen eine Schädigung der Matrix des Keimepithels verursachen, aus der dann kein Nachschub mehr erfolgt. Der klinisch erkennbare Effekt, die Azoospermie, tritt erst dann auf, wenn die nicht ernstlich geschädigten, differenzierten Elemente ihre normale Entwicklung beendet haben und das letzte Spermium den Nebenhoden verlassen hat (SCHINZ und SLOTOPOLSKY, 1925).

6. Restitution des strahlengeschädigten Keimepithels und zeitlicher Ablauf einer spermiogenetischen Reihe

Betrachtet man die Vorgänge, die sich bei der Wiederherstellung des zerstörten Keimepithels abspielen, so taucht die Frage auf, von welchen Zellen diese Repopulation ihren Ausgang nehmen kann.

Zwei Zellarten bleiben, da sie im Verhältnis zu den anderen Elementen des Samenepithels eine größere Resistenz aufweisen, nach der nicht vollkommenen Depopulation eng an die Wandung der Hodenkanälchen gelagert, zurück. Es sind dies die Typ A-Spermatogonien und die Sertolizellen.

In der Literatur stehen sich dementsprechend zwei Auffassungen gegenüber. Die eine Gruppe der Autoren (SCHINZ und SLOTOPOLSKY, 1925; WATTENWYL und JOEL, 1941) nimmt an, daß die Sertolielemente sich zu indifferenten Hodenzellen zurückverwandeln und daß daran anschließend eine Metamorphose zu Spermatogonien stattfindet.
Sie glauben ihre Theorie damit beweisen zu können, daß höhere Strahlendosen, nach denen die Tiere aber im allgemeinen wieder fertil werden, auch die Typ A-Spermatogonien töten, so daß nur noch die Sertolizellen allein übrigbleiben, und von diesen muß dann zwangsläufig eine Restitution ausgehen.

Die anderen Forscher, wie zum Beispiel REGAUD und BLANC (1906); HERTWIG (1938); FOGG und COWING (1951); CLERMONT und LEBLOND (1953); SHAVERS (1953); OAKBERG (1955) und SPALDING et al. (1957), halten es für unwahrscheinlich, daß die Repopulation von anderen Zellen als den Typ A-Spermatogonien ausgehen kann.

Nach CLERMONT und LEBLOND (1953), die die normale Spermiogenese im Rattenhoden untersuchten, ist es nicht bewiesen, daß sich die Sertolizellen in erwachsenen Tieren teilen, denn diesen Vorgang hat bisher niemand beobachten können.
Das Samenepithel verliert nach REGAUD und BLANC (1906) seine Restitutionsfähigkeit, wenn alle Spermatogonien abgetötet sind.
HERTWIG (1938) konnte beobachten, daß die Typ A-Spermatogonien nach Strahlendosen zwischen 200 r und 800 r immer zu finden waren.

SHAVERS (1953), der bei seinen Versuchen als erste Reaktion des Keimepithels auf eine Ganzkörperbestrahlung von 500 r einen Ausfall der Zellteilungen der Typ A-Spermatogonien sah, nimmt an, daß diese Zellen des Samenepithels die empfindlichsten gegenüber strahleninduzierter Mitosehemmung seien; bezüglich der Empfänglichkeit für irreversible Schäden spricht er ihnen jedoch eine hohe Resistenz zu. Er sah sogar nach einer lokal applizierten Dosis von 1005 r die "dustlike spermatogonia", wie die (Typ A) Spermatogonien im angelsächsischen Sprachgebrauch genannt werden, als einzigste Elemente des Keimepithels nicht untergehen.

FERROUX, REGAUD und SAMSSONOW (1938) bewiesen, daß sogar nach 1960 r Typ A-Spermatogonien überlebten.

Die Regeneration geht also mit großer Wahrscheinlichkeit von den überlebenden Spermatogonien des Typ A aus.

Über einen Zwischentyp, dessen Kern sich mit Safranin (REGAUD, 1901) anfärben läßt, soll durch Verdickung der Kernmembran und Abrundung des Zellkernes der Typ B entstehen.

Nach HELLER (1948) wird der Beginn der Regeneration des Keimepithels durch die Gegenwart basophiler, länglicher Zellen an der Basalmembran der Kanälchen angezeigt, was sich mit der Beobachtung von REGAUD decken könnte.

Im Zusammenhang mit der Regeneration des Samenepithels ergibt sich die Frage nach dem zeitlichen Ablauf der Spermiogenese. Die Zeit der Entwicklung von der Spermatogonie bis zum reifen Spermium ist bisher noch nicht endgültig bestimmt worden.
Der überzeugendste Versuch, die Frage zu klären, wurde 1925 von SCHINZ und SLOTOPOLSKY unternommen. Rein empirisch fanden sie eine Röntgenstrahlendosis, die den Typ B-Spermatogonien des Kaninchenhodens keinen sichtbaren Schaden zufügte, sondern sie nur für 10 Tage an der Teilung hinderte. Diese lokal applizierte Dosis betrug 60 r. Die Autoren zeigen Bilder von Hodenkanälchen 10 Tage nach der Strahleneinwirkung, auf denen ein vollständiger Kranz von Spermatogonien an der Kanälchenwand liegt, darüber, in einem Abstand, der den nicht vorhandenen Spermatozyten- und Spermidenreihen entspricht, reife Spermien. Sie schließen daraus, daß die Zeit von der Teilung der Spermatogonien bis zur Entlassung der reifen Spermien 10 Tage dauert. SCHINZ und

SLOTOPOLSKY räumen ein, daß diese Zeitspanne doch recht kurz sei und vielleicht durch eine Reizwirkung der schwachen Dosis von 60 r auf die Mitosen der Spermatozyten hervorgerufen werde.

HERTWIG (1938) konnte beobachten, daß der zeitliche Ablauf der Spermiogenese nicht sonderlich beeinflußt wird, wenn man anstelle von 200 r 800 r einstrahlt. Bei beiden Dosen beanspruchte der Durchlauf durch die spermiogenetische Reihe etwa 26 Tage.

Nach FOGG und COWING (1951) sind bei einer Dosis von 300 r 22 Tage für die Entwicklung von der Spermatogonie bis zur Spermie anzusetzen, während SHAVERS (1953) für 500 r (Ganzkörperbestrahlung) 27 Tage angibt. Die endgültige Erholung des Keimepithels soll jedoch vier bis fünf Monate dauern. Die lokal applizierte Dosis von 1005 r führte beim Rattenhoden zur permanenten Unterdrückung der Spermatogonienmitosen und zu einer Degeneration der übrigen Zellen, die damit endete, daß nach 21 Tagen das Keimepithel fast vollständig verschwunden war. Eine Repopulation soll danach im allgemeinen nicht mehr auftreten.

C. Eigene Untersuchungen

Die vorliegende Arbeit stellt einen Versuch dar, die Veränderungen, die wenige Tage nach einer Ganzkörper-Röntgenbestrahlung verschiedener Stärke am Keimepithel männlicher Mäuse auftreten, histologisch zu erfassen. Der Frage nach der Mitoseaktivität in den bestrahlten Gonaden wurde dabei besondere Beachtung geschenkt.

1. Material und Methode

Als Versuchsmaterial dienten 97 geschlechtsreife, männliche Mäuse der Inzuchtstämme "Atlas" und "C3H" des Institutes für Tierzucht und Erbpathologie der Freien Universität Berlin. Zehn Tiere waren als Kontrolle unbestrahlt geblieben, während die anderen 87 im Berliner Westend-Krankenhaus einer Ganzkörperbestrahlung unterzogen worden waren. Vor und nach der Strahleneinwirkung hielt man die Mäuse im Tierzuchtinstitut bei Zimmertemperatur und konstanten Lichtverhältnissen (12 Stunden Tag, 12 Stunden Nacht) in Gruppen zu vier bis sechs Stück in Vollglasbehältern. Ernährt wurden sie mit der sogenannten "Recordnahrung für Ratten und Mäuse", von der Firma Liefeldt, zusätzlich Wasser ad libidum.

Die Bestrahlung wurde mit einer wassergekühlten Müller-Röhre unter nachfolgenden Bedingungen ausgeführt: Röhrenspannung 250 KV; Röhrenstrom 15 mA; Filter 1,5 mm Cu; Halbwertschicht (HWS) 2,5 mm Cu. Die Fokushautdistanz von 47 cm ergab sich dadurch, daß man den Röntgenröhrentubus (10 x 15 cm) unmittelbar bis an die Rückenfläche der Mäuse in einen Glasbehälter gesenkt hatte, so daß eine völlige Durchstrahlung der Versuchstiere gewährleistet war. Die Dosierungen bewegten sich in einem Bereich von 600 r bis 1250 r.

Die Tötung der Mäuse erfolgte gruppenweise zwischen dem 3. und 14. Tag nach der Bestrahlung mit Äther. Nach dem Herauspräparieren beider Hoden wurde der linke eines jeden Tieres so aufgearbeitet, daß nur die Tunica albuginea angeschnitten und die hervorquellenden Hodenkanälchen auf einem mit Eiweißglyzerin vorbehandelten Objektträger ausgestrichen wurden. Der Rest des Organs wurde danach in zwei bis drei Stückchen zerlegt und dann, ebenso wie die Ausstriche, für eine Stunde in Alkohol-Eisessig (3 : 1) fixiert.

Der rechte Hoden wurde zusammen mit dem Nebenhoden in frisch zubereiteter Bouin'scher Lösung (15 Teile heißgesättigte Pikrinsäure, 5 Teile 40%iges Formalin und 1 Teil Eisessig) fixiert und blieb für etwa 12 - 16 Stunden darin.
Bis zur Einbettung in hartes Paraffin wurden die Hodenstückchen und die ganzen Organe nachfolgender Behandlung unterworfen:

1. Je 1 - 2 Stunden in 70%igem, 80%igem, 90%igem und absolutem Alkohol;
2. in Methylbenzoat I, II, III jeweils für mindestens 1 Stunde (I und II enthielten noch etwas Alkohol, während III reines Methylbenzoat war);
3. in Benzol vom Reinheitsgrad I, II, III für je 1/2 Stunde;
4. in Benzol-Paraffin für 1/4 Stunde bei etwa +38° C;
5. in weiches Paraffin für 16 Stunden, ebenfalls bei +38° C;
6. in hartes Paraffin für 3 - 4 Stunden bei +45° C.

Dann erfolgte die Einbettung, die Aufblockung und das Anfertigen der etwa 6 - 8 Mikron dicken Schnitte. Gefärbt wurden die Präparate der ganzen Hoden: 1. nach Ehrlich mit Hämatoxylin-Eosin und 2. nach van Gieson mit Weigertschem Eisenhämatoxylin und Pikrofuchsin, während die Schnitte der Hodenstückchen, ebenso wie die Ausstriche der Hodenkanälchen, der Chromosomenfärbung nach Gomorri unterworfen worden waren. Von der Auswertung der nach Gomorri gefärbten Präparate wurde jedoch aus mehreren Gründen Abstand genommen; denn die Mäusehoden haben zu wenig Substanz, und man kann sie nicht noch, ohne die Zahl der Kunstprodukte zu vervielfachen, in mehrere Stückchen zerlegen. Die ohnehin spärlich vertretenen und für die Auswertung wichtigen kreisrunden Kanälchenquerschnitte werden durch die Zerstückelung nur noch stärker dezimiert. Auch an Hand der Ausstrichpräparate ließ sich keine zuverlässige Aussage bezüglich der Fragestellung dieser Arbeit machen; denn bei einem Organausstrich ist es unmöglich, die gleiche Präzision wie zum Beispiel bei einem Blutausstrich zu erreichen, und so war das Untersuchungsmaterial mitunter recht uneinheitlich.

Vergleicht man die Färbemethoden miteinander, so fällt auf, daß die van Gieson-Färbung und auch die HE-Färbung das Chromosomenmaterial ähnlich gut darstellen wie die Methode nach Gomorri, aber der letzteren gegenüber den zusätzlichen Vorteil haben, das Zellplasma und das Bindegewebe mitanzufärben.

Die histologischen Präparate wurden nach folgenden Gesichtspunkten untersucht:

1. Zählung aller im gesamten Hodenquerschnitt vorhandenen Mitosen mit Ausnahme der Prophasen;
2. Bestimmung der Zahl der Zellelemente in einem Blickfeld von bestimmtem Ausmaß;
3. Feststellung der Größe einzelner Samenkanälchen.

ad 1: Um einen Überblick über die Mitoseaktivität im Samenepithel der Maus nach einer Ganzkörper-Röntgenbestrahlung zu bekommen, wurden alle Mitosen, die als solche deutlich erkennbar waren, in zwei Gruppen gesondert ausgezählt.
In der einen wurden alle Metaphasen und in der anderen alle Anaphasen und Telophasen jedes einzelnen Tieres zusammengefaßt. Die Prophasen wurden weggelassen, weil die Deutung dieses Mitosestadiums oft schwierig oder sogar unmöglich war und das Ergebnis der Untersuchung nur verwischt hätte.
Da die quer zur Längsachse angelegten Schnittflächen der Hoden einen unterschiedlichen Flächeninhalt hatten, mußte eine konstante Bezugsgröße für die Mitosenzahlen gefunden werden.
Die Präparate wurden mit Hilfe eines Diapositiv-Projektors in etwa 28facher Vergrößerung auf eine feste Unterlage projiziert, so daß die Umrisse der Gesamtschnittfläche des Hodens auf Schreibmaschinenpapier gleichen Gewichtes leicht nachgezeichnet werden konnten. Diese vergrößerten Hodenflächen wurden ausgeschnitten und auf einer analytischen Waage gewogen. Das so erhaltene Relativgewicht der Schnittflächen in Gramm wurde zur gesuchten Bezugsgröße für die Mitosezahlen. Da sich die Gewichte der Papierausschnitte bei dieser Vergrößerung um einen Wert von 1 g gruppierten, wurden die tatsächlich ausgezählten Metaphasen und die tatsächlich ausgezählten Anaphasen und Telophasen auf den Wert 1 g bezogen. Lag zum Beispiel das Relativgewicht bei 0,5 g, so mußte die Zahl der gezählten Mitosen verdoppelt werden, um das Relativgewicht 1 g zu erreichen. Entsprechend mußten sich die ausgezählten Mitosen verringern, wenn das Relativgewicht von 1 g überschritten worden war.

ad 2: Die Bestimmung der Zahl der Zellelemente durch Auszählung in einem kreisrunden Blickfeld von 0,0491 mm^2 erfolgte, um die bestrahlten Gruppen mit der unbestrahlten hinsichtlich des Zellbesatzes des Keimepithels vergleichen zu können. Der Flächeninhalt des Blickfeldes wurde unter Zuhilfenahme eines Objektmikrometers festgestellt. Es wurde jedoch nicht irgendein wahllos herausgegriffenes Blickfeld ausgezählt, sondern, um möglichst alle Präparate miteinander vergleichen zu können, jeweils eine Stelle im Schnitt ausgesucht, an der drei nicht offensichtlich zerstörte, kreisrunde Kanälchen zusammentrafen. Dadurch konnte auch verhindert werden, daß in einem Blickfeld wesentlich mehr Bindegewebe als in einem anderen auftrat.

ad 3: Die Größe der einzelnen Samenkanälchen wurde untersucht, um eine eventuell aufgetretene Schrumpfung derselben feststellen zu können.
Die Bezugsgröße wurde in ähnlicher Weise wie bei den Mitosezählungen (1. Teil der Auswertung) festgelegt, nur daß jetzt statt einer 28fachen Vergrößerung der ganzen Hodenschnittfläche eine 300fache für die Kanälchenquerschnitte gewählt wurde. Von jedem Tier wurden 6 möglichst quergetroffene, also annähernd kreisförmige Samenkanälchen mit Hilfe eines Zeiss-Winkel-Zeichenapparates auf einheitliches (vorgewogenes) Schreibmaschinenpapier der Mark "Zeta-Mattpost" gezeichnet, und zwar nur die Außenumrisse der Kanälchen und die Lumenbegrenzungen. Die Vergrößerung wurde auch hier wieder mit einem Objektmikrometer festgelegt. Bei Anwendung eines 5fach vergrößernden Okulars und eines 40fach vergrößernden Objektivs wurde der Durchmesser des mikroskopischen Gesichtsfeldes von 0,25 mm auf einen Durchmesser von 7,5 cm auf dem Zeichenpapier vergrößert (300fach). Die Kanälchen wurden ausgeschnitten und auf einer analytischen Waage gewogen. Das für jedes Einzeltier in der Tabelle aufgeführte Relativgewicht der Kanälchen ist ein Mittelwert aus 6 verschiedenen Kanälchenwägungen.

Die Zusammenstellung der Versuchstiergruppen:

Das Tiermaterial bestand aus 97 männlichen Mäusen, die aus 9 Populationen stammten. Wie die nachstehende Tabelle zeigt, wurden die Tiere aus 8 Populationen mit Strahlendosen zwischen 600 r und 1250 r bestrahlt, während die 10 unbestrahlt gebliebenen Kontrolltiere der neunten angehörten.

	Tier-Nr.	Dosis (r)	Sektionstag	Letalität (%)	Zusammenfassung
1.	1-10	750	8.	30	I
2.	11-25	600	7.	15	
3.	26-35	650	14.	56	II
4.	36-38 40-46	1250	4. u. 5	63	III
5.	47-56	900	8.	44	IV
6.	57-64	1250	3.	60	III
7.	65-79	900	4.	36	V
8.	80-85 87-89	1000	5.	56	
9.	94-103	unbestrahlte Kontrollgruppe			VI

Um bei den Untersuchungen nicht zuviel Einzelgruppen zu haben, wurden diese 8 Gruppen zu 5 Gruppen zusammengefaßt. Die unterschiedliche Letalität, die in den Populationen vorhanden war, aus denen unsere Versuchstiere entnommen worden waren, wurde dabei vernachlässigt; denn sie ist großen individuellen Schwankungen unterworfen und kann deshalb nicht ohne weiteres mit der Dosis und Latenzzeit in Zusammenhang gebracht werden.

Die endgültige Gruppenzusammenstellung:

Gruppe	Tier-Nr.	Tierzahl	Dosis	Sektion	Letalität
I	1- 25	25	600- 750	7.-8.	23 %
II	26- 35	10	650	14.	56 %
III	36- 38	18	1250	3.-5.	61,5 %
	40- 46				
	57- 64				
IV	47- 56	10	900	8.	44 %
V	65- 85	24	900-1000	4.-5.	46 %
VI	94-103	10	unbestrahlte Kontrolltiere		

Die Untersuchungsergebnisse sind in den anschließenden tabellarischen Übersichten festgehalten. Mittelwerte wurden für jede einzelne Gruppe nur errechnet, sofern diese für den Vergleich zwischen den bestrahlten Gruppen und den unbestrahlten erforderlich waren.

In den Fällen, in denen die statistische Sicherung der Ergebnisse notwendig erschien, wurde diese nach Anleitung von WEBER (1956) durchgeführt. Die Überprüfung der Signifikanz eines Mittelwertes erfolgte nach der Formel:

$$s = \pm \sqrt{\frac{\sum xi^2 - (\sum xi)^{2/n}}{n-1}}$$

während bei der statistischen Sicherung des Vergleichs zweier Mittelwerte der t-Test (nach STUDENT) zur Anwendung kam:

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{\sum xi^2 - (\sum xi)^{2/n} + \sum yi^2 - (\sum yi)^{2/m}}{n+m-2} \cdot \frac{n+m}{n \cdot m}}}$$

2. Tabellarische Übersicht der Untersuchungsergebnisse

Abkürzungen:

M	=	Mittelwert
Rel.gew	=	Relativgewicht
SPG	=	Spermatogonien
SPZ	=	Spermatozyten
SP	=	Spermiden
RSP	=	reife Spermien

Gruppe I (Dosis 600 - 750 r, Sektion 7. u. 8. Tg.)

Tier-Nr.	Gesamt-mitosen	Meta-phasen	Anaphasen + Telophasen	Relativgew. d.Schnittfl. (g)	Metaphasen bezogen auf 1 g Rel.gew.	Anaphasen + Telophasen bezogen auf 1 g Rel.gew.	Index Meta./Ana. + Telophasen	Zellen in einem 0,0491 mm² großen Blickfeld SPG	SPZ	SP	RSP	Relativgew. von 6 Kanälchen (g)
1	298	287	11	1,046	274,4	10,5	26,1	40	39	210	185	1,085
2	475	462	13	0,900	513,3	14,4	35,6	52	61	290	210	0,814
3	299	288	11	0,801	359,6	13,7	26,2	36	65	170	75	0,977
4	413	406	7	1,244	326,4	5,6	58,3	72	70	230	135	0,811
5	581	573	8	0,949	603,8	8,4	71,9	42	32	210	155	0,908
6	193	191	2	0,963	198,3	2,1	94,4	71	42	185	145	0,983
7	398	386	12	0,625	617,6	19,2	32,2	51	66	140	160	1,108
8	514	501	13	1,377	363,1	9,4	38,6	44	42	110	135	0,942
9	599	583	16	0,850	685,9	18,8	36,5	76	82	140	105	0,763
10	561	533	28	0,997	534,6	28,1	19,0	82	91	188	167	1,000
11	494	477	17	1,012	471,3	16,8	28,0	39	34	147	155	0,793
12	579	559	20	0,843	663,1	23,7	28,0	53	48	150	90	0,914
13	590	573	17	0,956	599,4	17,8	33,7	46	42	195	80	0,829
14	240	228	12	0,682	334,3	17,6	19,0	15	49	170	140	1,087
15	726	708	18	1,208	586,1	14,9	39,3	49	40	185	230	0,975
16	397	387	10	1,012	382,4	9,9	38,6	67	71	90	75	0,961
17	166	154	12	0,683	225,5	17,6	12,8	51	80	70	165	1,026
18	844	836	8	0,966	865,4	8,3	104,3	70	54	120	230	0,966
19	187	173	14	1,017	170,1	13,8	12,3	52	60	170	115	0,921
20	82	77	5	0,744	103,5	6,7	15,4	54	48	185	65	1,161
21	359	345	14	0,765	451,0	18,3	24,6	55	46	240	215	0,944
22	330	312	18	1,161	268,7	15,5	17,3	66	65	205	160	0,912
23	406	400	6	0,910	439,6	6,6	66,6	61	69	90	45	1,073
24	424	405	19	1,094	370,2	17,4	21,3	60	30	280	135	0,718
25	321	310	11	1,068	290,3	10,3	28,2	49	47	110	140	0,974
				M:	427,9	13,8	37,1	54	55	171	140	0,946

Gruppe II (Dosis 650 r, Sektion 14. Tg.)

Tier-Nr.	Gesamt-mitosen	Meta-phasen	Anaphasen + Telophasen	Relativgew. d.Schnittfl. (g)	Metaphasen bezogen auf 1 g Rel.gew.	Anaphasen + Telophasen bezogen auf 1 g Rel.gew.	Index Meta./Ana. + Telophasen	Zellen in einem 0,0491 mm² großen Blickfeld SPG	SPZ	SP	RSP	Relativgew. von 6 Kanälchen (g)
26	229	225	4	0,906	248,3	4,4	56,4	54	51	198	115	0,963
27	475	460	15	0,931	494,1	16,1	30,7	49	105	190	120	0,936
28	493	478	15	0,945	505,8	15,9	31,8	53	62	255	85	0,892
29	317	296	21	0,977	303,0	21,5	14,1	52	30	110	125	0,902
30	15	11	4	0,531	20,7	7,5	2,8	109	92	11	-	0,820
31	318	307	11	0,905	339,2	12,2	27,8	66	82	135	160	0,963
32	419	406	13	0,725	560,0	17,9	31,3	69	71	155	70	0,954
33	173	162	11	0,502	322,7	21,9	14,7	62	75	225	140	0,932
34	586	572	14	0.946	604,7	14,8	40,9	62	92	120	110	0,858
35	678	661	17	1,181	559,7	14,4	38,9	56	80	185	140	0,931
				M:	395,8	14,7	28,9	63	74	158	107	0,915

Gruppe III (Dosis 1250 r, Sektion 3. u. 5. Tg.)

Tier-Nr.	Gesamt-mitosen	Meta-phasen	Anaphasen + Telophasen	Relativgew. d.Schnittfl. (g)	Metaphasen bezogen auf 1 g Rel.gew.	Anaphasen + Telophasen bezogen auf 1 g Rel.gew.	Index Meta./Ana. + Telophasen	Zellen in einem 0,0491 mm² großen Blickfeld SPG	SPZ	SP	RSP	Relativgew. von 6 Kanälchen (g)
36	582	569	13	0,703	809,0	18,5	43,7	55	63	95	240	1,220
37	696	674	22	1,290	522,5	17,1	30,6	78	52	210	190	1,238
38	165	157	8	0,461	340,6	17,4	19,6	42	83	135	170	0,988
40	299	290	9	0,771	376,1	11,7	32,1	74	114	110	130	1,084
41	284	274	10	0,942	290,9	10,6	27,4	70	92	110	180	1,157
42	365	355	10	0,827	429,3	12,1	35,5	69	62	81	90	1,074
43	594	580	14	0,866	669,7	16,2	41,3	36	86	235	178	1,016
44	241	229	12	0,361	634,4	33,2	19,1	89	79	210	160	1,144
45	366	353	13	0,713	495,1	18,2	27,2	54	64	198	75	0,840
46	348	333	15	0,690	482,6	21,7	22,2	44	72	210	55	1,121
57	33	29	4	0,381	76,1	10,5	7,2	66	80	210	155	0,971
58	44	40	4	0,365	109,6	11,0	10,0	50	48	90	40	-
59	41	38	3	0,320	118,8	9,4	12,6	67	37	42	110	-
60	38	33	5	0,497	66,4	10,1	6,6	38	28	115	170	-
61	59	57	2	0,554	102,9	3,6	28,6	63	23	170	130	1,012
62	147	142	5	0,650	218,5	7,7	28,4	112	80	125	40	0,964
63	79	76	3	0,452	168,1	6,6	25,5	54	78	55	90	0,869
64	96	91	5	0,541	168,2	9,2	18,3	35	58	195	-	0,755
				M:	337,7	13,6	24,2	55	67	144	120	1,030

Gruppe IV (Dosis 900 r, Sektion 8. Tg.)

Tier-Nr.	Gesamt-mitosen	Meta-phasen	Anaphasen + Telophasen	Relativgew. d.Schnittfl. (g)	Metaphasen bezogen auf 1 g Rel.gew.	Anaphasen + Telophasen bezogen auf 1 g Rel.gew.	Index Meta./Ana. + Telophasen	Zellen in einem 0,0491 mm² großen Blickfeld SPG	SPZ	SP	RSP	Relativgew. von 6 Kanälchen (g)
47	231	217	14	0,615	352,8	22,8	15,5	52	73	310	160	1,119
48	272	252	20	1,054	239,1	19,0	12,6	30	90	170	70	1,022
49	99	93	6	0,463	200,9	13,0	15,5	60	95	240	120	1,118
50	173	164	9	0,398	412,1	22,6	18,2	65	48	250	110	0,932
51	348	333	15	1,036	321,4	14,5	22,2	31	80	240	145	0,842
52	40	39	1	0,505	77,2	2,0	38,6	52	35	95	76	1,062
53	306	284	22	0,998	284,6	22,0	12,9	59	61	240	124	0,941
54	242	232	10	0,616	376,6	16,2	23,2	63	56	130	115	0,844
55	192	182	10	0,802	226,9	12,5	18,2	60	42	160	110	0,823
56	173	165	8	0,563	293,1	14,2	20,6	58	52	260	110	0,883
				M:	278,5	15,9	19,8	53	63	210	114	0,959

Gruppe V (Dosis 900 - 1000 r, Sektion 4. u. 5. Tg.)

Tier-Nr.	Gesamt-mitosen	Meta-phasen	Anaphasen + Telophasen	Relativgew. d.Schnittfl. (g)	Metaphasen bezogen auf 1 g Rel.gew.	Anaphasen + Telophasen bezogen auf 1 g Rel.gew.	Index Meta./Ana. + Telophasen	Zellen in einem 0,0491 mm² großen Blickfeld SPG	SPZ	SP	RSP	Relativgew. von 6 Kanälchen (g)
65	25	17	8	0,478	35,6	16,7	2,1	34	65	205	140	0,728
66	86	77	9	0,450	171,1	20,5	8,6	68	88	210	240	0,925
67	200	193	7	0,447	431,8	15,7	27,5	79	94	15	70	0,970
68	265	253	12	0,759	333,3	15,8	21,1	53	94	270	165	1,000
69	303	292	11	0,907	321,9	12,1	26,6	50	59	220	135	1,274
70	314	301	13	1,153	261,1	11,3	23,1	64	66	290	220	1,435
71	258	239	19	0,837	285,5	22,7	12,6	69	53	190	120	1,314
72	285	263	22	0,947	277,7	23,2	11,9	67	71	178	80	1,074
73	334	323	11	0,902	358,1	12,2	29,4	56	55	255	180	1,184
74	248	236	12	0,797	296,1	15,1	19,6	45	64	240	110	0,938
75	68	66	2	0,458	144,1	4,4	32,8	42	87	170	60	0,661
76	141	133	8	0,538	247,2	14,9	16,6	64	73	56	77	0,764
77	448	408	40	0,797	511,9	50,2	10,2	115	26	220	95	0,855
78	295	278	17	0,967	287,5	17,6	16,3	88	74	250	130	0,950
79	164	152	12	0,585	259,8	20,5	12,7	66	54	140	145	1,096
80	209	199	10	0,710	280,3	14,1	19,9	70	84	155	90	0,998
81	277	263	14	1,103	238,4	12,7	18,8	102	80	240	170	1,252
82	267	239	28	0,961	248,7	29,1	8,5	59	36	176	110	1,042
83	159	139	20	0,991	140,3	20,2	6,9	53	57	170	165	1,282
84	192	180	12	0,554	324,9	21,7	15,0	77	44	180	70	1,173
85	335	311	24	0,896	347,1	26,8	13,0	55	84	220	150	1,451
87	241	215	26	0,816	263,5	31,9	8,3	78	100	124	70	1,197
88	147	130	17	0,679	191,5	25,0	7,7	51	107	202	94	0,971
89	300	272	28	0,933	291,5	30,0	9,7	77	129	198	125	0,945
				M:	272,8	20,2	15,8	66	73	190	125	1,062

Gruppe VI (unbestrahlt, Kontrollgruppe)

Tier-Nr.	Gesamtmitosen	Metaphasen	Anaphasen + Telophasen	Relativgew. d.Schnittfl. (g)	Metaphasen bezogen auf 1 g Rel.gew.	Anaphasen + Telophasen bezogen auf 1 g Rel.gew.	Index Meta./Ana. + Telophasen	Zellen in einem 0,0491 mm² großen Blickefeld SPG	SPZ	SP	RSP	Relativgew. von 6 Kanälchen (g)
94	228	178	50	0,989	180,0	50,6	3,6	60	71	149	105	1,069
95	153	123	30	1,045	117,7	28,7	4,1	43	70	136	141	1,321
96	68	54	14	0,589	91,7	23,8	3,9	77	63	107	125	1,310
97	157	129	28	0,452	285,4	61,9	4,6	64	53	180	139	1,072
98	349	292	57	1,000	292,0	57,0	5,1	58	68	75	141	0,879
99	191	163	28	0,910	179,1	30,8	5,8	62	70	175	112	1,032
100	390	325	65	0,889	365,6	73,1	5,0	52	73	220	129	1,137
101	145	118	27	0,514	229,6	52,5	4,4	44	83	215	157	1,134
102	236	202	34	0,839	240,1	40,5	5,9	47	57	181	102	1,389
103	198	164	34	0,761	215,5	44,7	4,8	60	51	162	174	1,117
				M:	219,7	46,4	4,7	57	66	160	133	1,146

3. Besprechung der Ergebnisse

1. Mitosen

Durch die Auszählung aller in den Präparaten deutlich erkennbaren Metaphasen sowie der Anaphasen und Telophasen konnte eine Zunahme der Teilungsaktivität im Keimepithel männlicher Mäuse nach einer Ganzkörper-Röntgenbestrahlung festgestellt werden.

Setzt man die auf den Relativwert 1 g bezogenen Mitosestadien in ein Verhältnis zueinander, das heißt dividiert man in jeder Gruppe die Zahl der Metaphasen eines jeden Tieres durch die Summe der Anaphasen und Telophasen, so entsteht ein Index, der angibt, wieviele Metaphasen auf eine Anaphase beziehungsweise Telophase in dem Hodenquerschnitt des betreffenden Versuchstieres entfallen. Die Summe der einzelnen Indices einer Gruppe, dividiert durch die Zahl der Tiere, ergibt den Mittelwert $\bar{x}$, der hier als Gruppenindex bezeichnet werden soll.
In der Tabelle 1 sind die Ergebnisse der Mitosenzählung zusammengefaßt. Die einzelnen Werte weichen stark voneinander ab.

Tabelle 1 Ergebnisse der Mitosenzählung

Gruppe	I	II	III	IV	V	VI
Dosis(r)	600-750	650	1250	900	900-1000	unbestrahlt (Kontroll-
Sektion	7.u.8.Tg.	14.Tg.	3.u.5.Tg.	8.Tg.	4.u.5.Tg.	gruppe)
Mittelwerte:						
Gesamtmitosen (ohne Prophasen)	441,7	410,5	351,3	294,4	293,0	266,1
Metaphasen	427,9	395,8	337,7	278,5	272,8	219,7
Anaphasen + Telophasen	13,8	14,7	13,6	15,9	20,2	46,4
Gruppenindices	37,1	28,9	24,2	19,8	15,8	4,7

Vergleicht man die unbestrahlte Kontrollgruppe (VI) mit den anderen fünf Gruppen, die unterschiedlichen Strahlendosen ausgesetzt waren, bezüglich der Gesamtmitosen, so findet man bei der Gruppe I 66 % mehr Zellteilungsformen als in der Gruppe VI, bei Gruppe II sind es 54 %, bei Gruppe III 32 %, während bei Gruppe IV 11 % und bei Gruppe V noch 10 % mehr Mitosen als in der Kontrolle auftreten. Der Vergleich der Gruppenindices zeigt, daß der Anstieg der Mitosezahlen in den bestrahlten Hoden lediglich auf die Vermehrung der Metaphasen zurückzuführen ist, während die anderen Teilungsformen stark zurückgegangen sind. Besonders bei der Gegenüberstellung der Gruppen I und VI wird dieses deutlich. In der ersten Gruppe kommen 37 Metaphasen auf eine Anaphase beziehungsweise Telophase, während es in der unbestrahlten Kontrollgruppe nur 4,7 Metaphasen sind. Auffallend ist weiterhin, daß der Mittelwert der Anaphasen + Telophasen in allen bestrahlten Gruppen zwischen 13,8 und 20,2 Stück pro Flächeneinheit (1 g) liegt, also gegenüber der unbestrahlten, die 46,4 postmetaphasische Teilungsfiguren aufweist, um mehr als 50 % abgenommen hat.

Bezüglich der rückschließenden Deutung der Vorgänge, die zu einem Ansteigen der Metaphasen und zu einer Verminderung der danach folgenden Teilungsformen führten, stehen sich im Schrifttum die verschiedensten Ansichten gegenüber. Von einigen Autoren wurde jedoch in Übereinstimmung festgestellt, daß die Mitoseaktivität im Keimepithel männlicher Mäuse nach einer Ganzkörper-Röntgenbestrahlung über das normale Maß hinaus ansteigen kann (LEA, 1956; FRITZ-NIGGLI, 1958). Die gleichen Beobachtungen konnte VELDEN (1962) am Keimepithel männlicher Ratten machen. NEBEL und MURPHY (1960) fanden außerdem noch eine langanhaltende Blockierung der Metaphase, die sich über mehrere Wochen erstrecken soll.

Die vorliegenden Untersuchungen decken sich mit denen der beiden Autoren.

Nach der Einwirkung der Röntgenstrahlen verlaufen die Zellteilungen im Keimepithel der männlichen Maus bis zur Metaphase und kommen dann zum Stillstand. Das scheint aber nur für diejenigen Zellen zuzutreffen, die sich zum Zeitpunkt der Bestrahlung im Ruhestadium befanden, denn nach FRITZ-NIGGLI (1958) und BACQ und ALEXANDER (1958) werden die Stadien der späten Prophase, der Metaphase, der Anaphase und der

Telophase auch durch höhere Strahlendosen kaum in ihrem Ablauf beeinflußt, obwohl die Zellen alle Arten von Chromosomenschäden aufweisen können.

Auch unter den in dieser Arbeit ausgezählten postmetaphasischen Teilungsformen befanden sich einige, die offensichtlich geschädigt waren und Veränderungen der Chromosomenanordnung zeigten, die als Brücken und Fragmente gedeutet werden könnten.
Die Abbildung 1 zeigt eine solche Chromosomenbrücke, die Abbildung 2 ein Fragment.

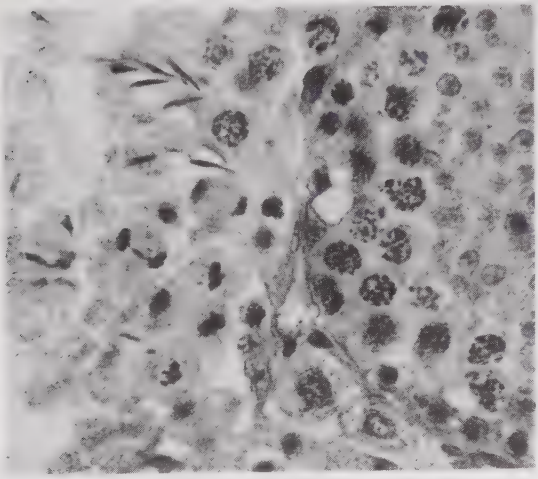

Abb. 1 (Vergrößerung ca. 684 x)
Tier Nr. 81
1000 r, 5. Tag

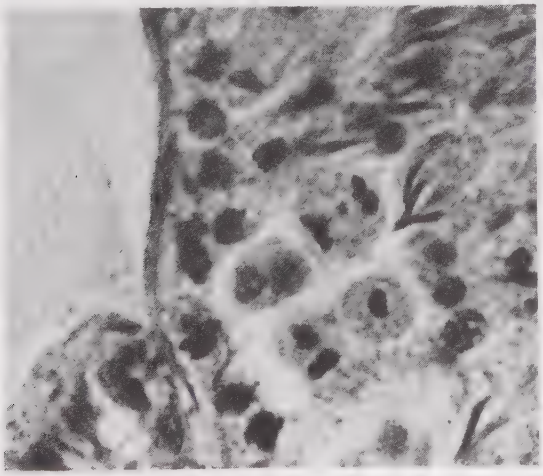

Abb. 2 (Vergrößerung ca. 1004 x)
Tier Nr. 13
600 r, 7. Tag

Ohne auf die Vielfalt der möglichen Chromosomenschädigungen und deren Entstehungstheorien im einzelnen einzugehen, sei hier noch eine kurze Betrachtung über das Schicksal derartig verbildeter Mitosen angefügt.

Die beiden auf den Abbildungen 1 und 2 zu sehenden, gestörten Zellteilungsvorgänge zeigen deutlich, daß Chromosomen beziehungsweise Teile derselben zwischen den beiden durch die Anaphase entstandenen Chromosomengruppen liegen. Man kann nun vermuten, daß in beiden Fällen genetisches Material, das für die vollständige und gleichmäßige Ausstattung der Tochterzellen bestimmt war, verlorengegangen ist. Sterben diese geschädigten Tochterzellen nicht ab, so sind die sich aus ihnen entwickelnden Samenzellen entweder befruchtungsunfähig oder sie verursachen auf Grund ihres unvollständigen Chromosomenmaterials Mißbildungen.

2. Um einen Überblick über die Beteiligung der einzelnen Zellarten am Keimepithel männlicher Mäuse vor und nach der Bestrahlung zu haben, wurde aus jedem Präparat ein Blickfeld von 0,0491 mm^2 ausgewählt, in welchem drei annähernd kreisrunde, nicht offensichtlich geschädigte Kanälchenquerschnitte aufeinander trafen. In jeder Gruppe wurde von den ausgezählten Spermatogonien des Typ B (SPG), den Spermatozyten (SPZ), den Spermiden (SP) und den reifen Spermien (RSP) der Mittelwert errechnet (s. Tab. 2).

Tabelle 2 Ergebnis der Zählung der einzelnen Zellarten

Gruppe	I	II	III	IV	V	VI
Dosis (r)	600-750	650	1250	900	900-1000	unbestrahlt
Sektion	7.u.8.Tg.	14.Tg.	3.u.5.Tg.	8.Tg.	4.u.5.Tg.	-
SPG	54	63	55	53	66	57
SPZ	55	74	67	63	73	66
SP	171	158	144	210	190	160
RSP	140	107	120	114	125	133

Vergleicht man diese Zahlen miteinander, so ist zwischen den bestrahlten und den unbestrahlten Tieren kein Unterschied feststellbar. Besonders interessierte die Frage nach der Abnahme der Typ B-Spermatogonien, denn diesen Zellen wird die größte Strahlensensibilität innerhalb des Keimepithels zugesprochen. Daraus kann man schließen, daß deutlich erkennbare Veränderungen in der zellulären Zusammensetzung des Keimepithels zwischen den bestrahlten und den unbestrahlten Versuchstieren in dieser kurzen Versuchsspanne von 3 bis 14 Tagen noch nicht aufgetreten sind.

Da die Strahlenempfindlichkeit von der Spermatozyte über die Spermide bis zur reifen Spermie hin abnimmt, tritt eine zahlenmäßige Verringerung dieser drei Zellarten nach SCHINZ und SLOTOPOLSKY (1925) erst dann auf, wenn diese Zellen ihre normale Entwicklung beendet haben und von der Matrix des Keimepithels her kein Nachschub mehr erfolgt. Wenn man berücksichtigt, daß eine spermiogenetische Reihe etwa 24 Tage in Anspruch nimmt (die Angaben der verschiedenen Autoren bewegen sich zwischen 21 und 27 Tagen), konnte bei den vorliegenden Zählungen, die zwischen dem 3. und dem 14. Tag nach der Strahleneinwirkung durchgeführt worden sind, noch keine Abnahme der Spermatozyten-, Spermiden- und Spermienzahlen erwartet werden.

Die bei vielen Autoren beschriebene Riesenzellbildung konnte auch bei dem hier untersuchten Material beobachtet werden. Sie scheint weitgehend von der Höhe der eingestrahlten Dosis abzuhängen. SHAVERS (1953) fand bei der Ratte nach einer lokal applizierten Dosis von 1005 r nach sechs Tagen Riesenzellen, während SPALDING, WELLNITZ und SCHWEITZER (1957) sie schon zwei Tage nach einer Dosis von 5000 r auftreten sahen und daraus schlossen, daß diese Zellform charakteristisch für hohe Strahlendosen sei.

Nur bei der Versuchstiergruppe III, die mit der höchsten hier angewandten Dosis von 1250 r bestrahlt und nach drei beziehungsweise fünf Tagen getötet worden war, konnten Riesenzellen festgestellt werden.

Für die Entstehungsweise dieser Zellen geben SPALDING, WELLNITZ und SCHWEITZER (1957) zwei Möglichkeiten an: 1. eine multiple Kernteilung ohne nachfolgende Plasmateilung; 2. eine Verschmelzung von Zellen.

Der letzte Weg wäre denkbar über eine fettige Degeneration der Zellmembran, an die sich das Zusammenfließen der Zellen anschließt, in gleicher Weise, wie zwei Wassertropfen zu einem größeren zusammentreten.

Die Abbildung 3 zeigt degenerierte Hodenkanälchen mit Vakuolenbildung und Riesenzellen. Im rechten oberen Quadranten der Mikrofotografie sind in einer Plasmamasse sieben Kerne sichtbar.

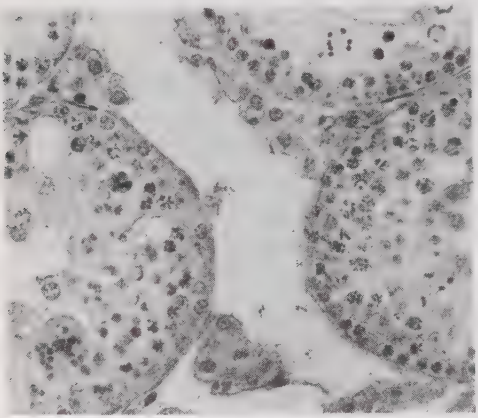

Abb. 3 (Vergrößerung ca. 360 x)
Tier Nr. 60
1250 r, 3. Tag

3. Im dritten Teil der Materialauswertung wurde die Größe der einzelnen Samenkanälchen untersucht, um eine durch die Einwirkung der Röntgenstrahlen eventuell aufgetretene Schrumpfung der Tubuli semiferi deutlich machen zu können.

Eine Abweichung der Mittelwerte der relativen Samenkanälchengewichte konnte zwischen den bestrahlten Gruppen und der Kontrollgruppe festgestellt werden. Um zu klären, ob diese Differenzen etwa zufällig entstanden sind, wurde eine mathematisch-statistische Prüfung der Mittelwerte mit Hilfe des t-Testes vorgenommen. Die bestrahlten Gruppen wurden einzeln mit der unbestrahlten Gruppe verglichen (Tab. 3). Signifikante Unterschiede wurden bei den Gruppen I, II und IV gefunden. Die Mittelwerte der Gruppen III und V sind als nicht signifikant zu bezeichnen, da ihnen eine Irrtumswahrscheinlichkeit von mehr als 5 % zugrunde gelegt werden muß.

Tabelle 3 Mittelwerte der Relativgewichte der Samenkanälchen, Standardabweichung und mit dem t-Test errechnete Irrtumswahrscheinlichkeit

Gruppe	I	II	III	IV	V	VI
Dosis(r)	600-750	650	1250	900	900-1000	unbestrahlt
Sektion	7.u.8.Tg.	14.Tg.	3.u.5.Tg.	8.Tg.	4.u.5.Tg.	
$\bar{x}$	0,946	0,915	1,030	0,959	1,062	1,146
s	±0,113	±0,047	±0,139	±0,115	±0,211	±0,188
p	wenig.als 0,5 %	wenig.als 0,5 %	wenig. als10%	wenig.als 2 %	mehr als 20 %	-
n	25	10	15	10	24	10

$\bar{x}$ = Mittelwert der Relativgewichte (g)

s = Standardabweichung

p = Irrtumswahrscheinlichkeit (probability)

n = Zahl der Versuchstiere

Bei der Berechnung der Standardabweichung wurde eine Vertrauensgrenze von 1 s gewählt, in der 68 % aller Mittelwerte einer Gruppe liegen.
Für die unbestrahlte Kontrollgruppe VI mit dem Mittelwert $\bar{x}$ = 1,146 g wurde eine Standardabweichung von ± o,188 g errechnet. Die obere Grenze ist demzufolge 1,334 g, die untere 0,958 g. Die stärkste Abnahme des Relativgewichtes der Samenkanälchen wurde mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,5 % bei der Gruppe II ermittelt ($\bar{x}$ = 0,915 g; s = ± 0,047 g (obere Grenze: 0,962 g; untere Grenze: 0,868 g)). Die Versuchstiere dieser Gruppe II wurden mit 650 r bestrahlt und nach 14 Tagen getötet.

Das Untersuchungsergebnis läßt den Schluß.zu, daß nach dieser verhältnismäßig kurzen Zeit bei der Maus eine deutliche Veränderung des Relativgewichtes der Tubuli semiferi zu erkennen ist, die als eine beginnende Schrumpfung gedeutet werden kann.

VELDEN (1962) konnte eine kräftige Schrumpfung mit allen Depopulationserscheinungen an den Samenkanälchen der Ratte 60 Tage nach einer Ganzkörperbestrahlung mit 900 r feststellen, während nach WATTENWYL und JOEL (1943) eine maximale Schrumpfung der Kanälchen schon 25 Tage nach einer lokalen Bestrahlung des Rattenhodens mit 900 r auftreten soll.

Abschließend sei noch erwähnt, daß bei der Auswertung der Präparate bei einigen Versuchstieren Schädigungen einzelner Hodenkanälchen in Form von fast vollständiger Depopulation und Vakuolisierung beobachtet werden konnten. Diese Erscheinungen können als individuelle Strahlenempfindlichkeit gedeutet werden.

Unbestrahlte und strahlengeschädigte Hodenkanälchen sind in den Abbildungen 4 und 5 in einer Übersicht dargestellt und in den Abbildungen 6 und 7 in einer stärkeren Vergrößerung, die die Unterschiede noch deutlicher erkennen läßt.

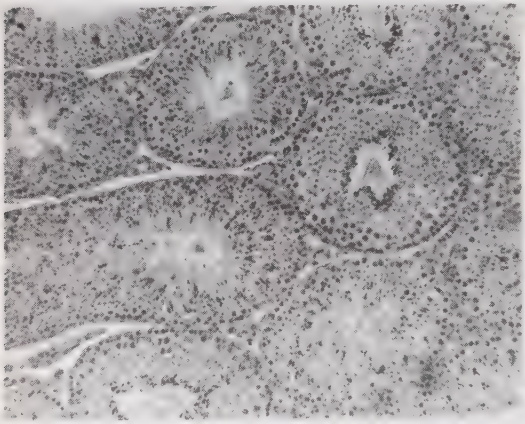

Abb. 4 (Vergrößerung ca. 115 x)
Tier Nr. 95
unbestrahlt

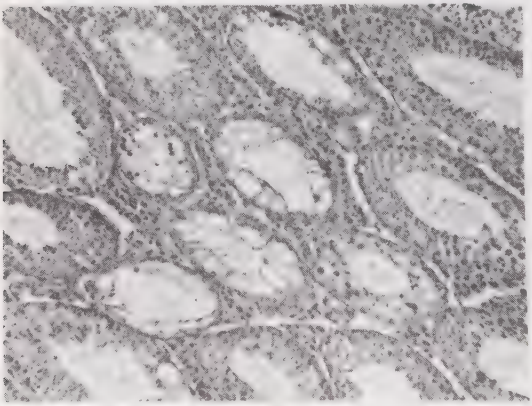

Abb. 5 (Vergrößerung ca. 115 x)
Tier Nr. 75
1000 r, 5. Tg.

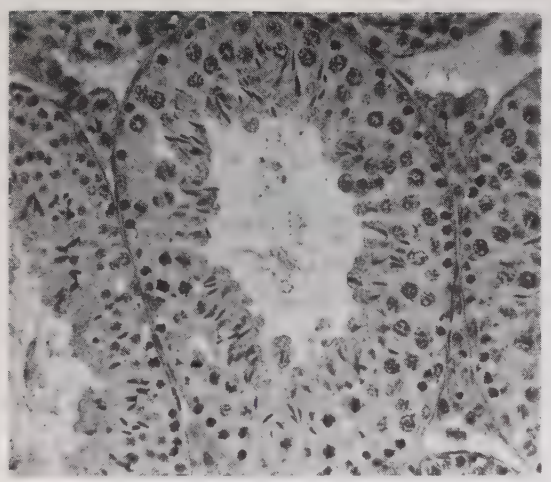

Abb. 6 (Vergrößerung ca. 288 x)
Tier Nr. 98
unbestrahlt

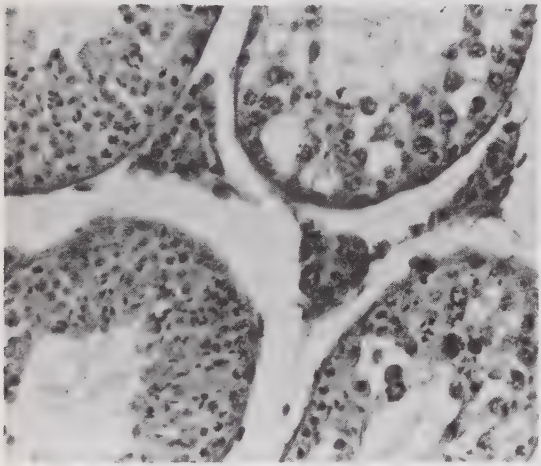

Abb. 7 (Vergrößerung ca. 288 x)
Tier Nr. 60
1250 r, 5. Tag

4. Zusammenfassende Schlußbetrachtung

In Übereinstimmung mit LEA (1946) und FRITZ-NIGGLI (1958) konnte ein Ansteigen der mitotischen Aktivität bei allen bestrahlten Gruppen beobachtet werden. Hohe Mitosenzahlen traten bei den Gruppen I und II auf, die mit den niedrigsten Dosen (zwischen 600 r und 750 r) bestrahlt worden waren und danach noch 7 beziehungsweise 14 Tage gelebt hatten. Bei den Gruppen IV und V sind die Mitosenzahlen gegenüber der Kontrollgruppe nur unwesentlich erhöht (900 - 1000 r; Sektion nach 4 beziehungsweise 8 Tagen). Die Gruppe III dagegen wurde der höchsten Dosis (1250 r) ausgesetzt und nach 3 beziehungsweise 5 Tagen getötet. Mit einer gegenüber der unbestrahlten Kontrollgruppe um 32 % erhöhten Mitosenzahl nimmt diese Gruppe eine Mittelstellung ein.

Eine Dosis von 600 - 750 r scheint demzufolge einen kräftigen Reiz auf das Keimepithel auszuüben, das dann mit einer Steigerung der Zellteilungen reagiert. Da die erhöhte Mitosenzahl lediglich auf die Vermehrung der Metaphasen zurückzuführen ist, kann man daraus schließen, daß die Mitosen in der Metaphase blockiert werden. Die Ursachen dieser Erscheinung sind bis jetzt noch unbekannt.

Die Zählung der Spermatogonien, der Spermatozyten, der Spermiden und der Spermien ließ keinen Unterschied zwischen den bestrahlten und den unbestrahlten Mäusehoden erkennen. Sogar die Spermatogonien des Typ B, die bezüglich der Einwirkung ionisierender Strahlen den locus minoris resistentiae des Keimepithels darstellen, waren in normaler Anzahl bei allen bestrahlten Gruppen vorhanden. Eine Reduktion der Zahl der Typ B-Spermatogonien scheint 3 bis 14 Tage nach den hier angewandten Strahlendosen noch nicht erfolgt zu sein.

Das Auftreten von Riesenzellen, das nach SPALDING, WELLNITZ und SCHWEITZER (1953) charakteristisch für hohe Strahlendosen sein soll, konnte bei der Gruppe III (1250 r; Sektion nach 3 beziehungsweise 5 Tagen) beobachtet werden.

Signifikante, mit dem t-Test erhärtete Unterschiede zwischen den bestrahlten Gruppen I, II und IV und der Kontrollgruppe konnten an den Mittelwerten der Relativgewichte der Samenkanälchen aufgezeigt

werden. Die mit 650 r bestrahlte und nach 14 Tagen getötete Versuchstiergruppe II wies die stärkste Abnahme des Relativgewichtes der Samenkanälchen auf. Man kann daraus schließen, daß schon nach 14 Tagen eine Schrumpfung der Samenkanälchen des Mäusehodens auftritt.

In wenigen Fällen konnte eine starke individuelle Strahlenempfindlichkeit einzelner Versuchstiere festgestellt werden, die sich dadurch zu erkennen gab, daß manche Hodenkanälchen Vakuolen aufwiesen und fast vollständig depopuliert waren.

D. Zusammenfassung

An einem Versuchsmaterial von 97 geschlechtsreifen männlichen Inzuchtmäusen wurden die durch eine Röntgenbestrahlung verschiedener Stärke hervorgerufenen Frühschäden der Hoden histologisch untersucht.
Zehn Mäuse blieben als Kontrolle unbestrahlt, während die restlichen einer Ganzkörperbestrahlung mit einer Dosis zwischen 600 r und 1250 r ausgesetzt wurden. Die Tötung der in 5 Gruppen eingeteilten Versuchstiere erfolgte 3 bis 14 Tage nach der Strahleneinwirkung.

Die histologische Untersuchung der mit Haematoxylin-Eosin und nach van Gieson gefärbten Paraffinschnitte umfaßte die Auszählung aller jeweils in einem Präparat vorhandenen Mitosen mit Ausnahme der Prophasen, die Bestimmung der Zahl der Zellelemente mit einem Blickfeld von bestimmtem Ausmaß sowie die Feststellung der Größe einzelner Samenkanälchen.

Alle bestrahlten Gruppen wiesen eine Zunahme der mitotischen Aktivität auf. Der Anstieg der Mitosezahlen trat besonders deutlich bei der Gruppe I (600 - 750 r; Versuchsdauer 7 bis 8 Tage) und bei der Gruppe II (650 r; Versuchsdauer 14 Tage) in Erscheinung; 66 % und 54 % mehr Gesamtmitosen als in der Kontrollgruppe VI. Mit Hilfe des Gruppenindex, der das durchschnittliche Verhältnis der Zahl der Metaphasen zu der Zahl der Anaphasen und Telophasen verdeutlicht, wurde bewiesen, daß der Anstieg der Mitosenzahlen lediglich auf eine Vermehrung der Metaphasen zurückzuführen ist.
Dieser Index war bei der Gruppe I mit 37,1 und bei der Gruppe II mit 28,9 gegenüber der Kontrollgruppe VI mit 4,7 deutlich erhöht.

Veränderungen in der Zusammensetzung der Zellelemente des Keimepithels waren bei keiner der bestrahlten Gruppen festzustellen. Der nach der Bestrahlung vergangene Zeitraum war offensichtlich zu kurz, um eine Reduktion der Zellzahlen des samenbildenden Epithels in Erscheinung treten zu lassen.

In einzelnen Fällen konnten Riesenzellen in den Gewebeschnitten der mit 1250 r bestrahlten und nach 3 beziehungsweise 5 Tagen getöteten Gruppe III beobachtet werden.

Die Größe der einzelnen Samenkanälchenquerschnitte wurde als das Gewicht von Papierringen ermittelt, die flächengetreu nach den mikroskopischen Bildern angefertigt worden waren (Relativgewicht).

Die Mittelwerte der Relativgewichte der Samenkanälchen der Gruppen I, II und IV unterschieden sich signifikant von denen der Kontrollgruppe.
Die Abnahme des Relativgewichtes, die auf eine beginnende Schrumpfung der Hodenkanälchen schließen läßt, trat bei den mit 650 r bestrahlten und nach 14 Tagen getöteten Mäusen der Gruppe II besonders deutlich auf.

An Hand von Mikrofotografien wurde eine ausgeprägte individuelle Strahlenempfindlichkeit einiger Versuchstiere aufgezeigt.

E. Literaturverzeichnis

1. ALBERS-SCHÖNBERG (1903)
Über eine bisher unbekannte Wirkung der Röntgenstrahlen in dem Organismus der Tiere.
Münch. med. Wschr. 50, 1859 - 1861

2. BACQ, Z. M., u. P. ALEXANDER (1958)
Grundlagen der Strahlenbiologie.
Verl. Thieme, Stuttgart

3. BARRON, E. S. G. (1950)
The effect of ionizing radiations on some systems of biological importance.
Symposium on Radiobiology, 216 - 240
John Wiley & Sons, INC, New York

4. BLOOM, W. (1954)
Histological changes after irradiation.
Radiation Biol., Vol. 1, 17, 1091 - 1144

5. CARLSON, J. G. (1941)
Effects of x-radiation on grasshopper chromosoms.
Cold Spr. Harb. Symp. 9, 104

6. CHAPMAN, W. H., u. Mitarbeiter (1949)
Naval Medical Inst. Project NM 006012.08.25
(zitiert bei BARRON, 1950)

7. CLERMONT, Y., u. C. P. LEBLOND (1953)
Renewal of spermatogonia in the rat.
Amer. J. Anat. 93, 475 - 501

8. DALE, W. M. (1950)
Some aspects of the biochemical effects of ionizing radiations.
Symposium on Radiobiology, 177 - 187
John Wiley & Sons, INC, New York

9. DURYEE, W. R. (1949)
J. Nat. Cancer Inst. 10, 735
(zitiert bei BACQ u. ALEXANDER, 1958)

10. ESCHENBRENNER, A. B., MILLER, E., u. E. LORENZ (1948)
Quantitativ histologic analysis of the effect of whole-body irradiation with gamma-rays on the spermatogonic elements and the intertestitial tissue of the testis of mice.
J. Nat. Cancer Inst. 9, 133 - 147

11. EULER, H. v., u. L. HAHN
Influence of roentgen-rays on isolated cell nuclei.
Acta radiol. 27, 269 - 280

12. EULER, H. v., u. J. G. BELLOWS (1936)
Arch. Ophthalmol. 16, 762
(zitiert bei BARRON, 1950)

13. EULER, H. v., u. G. HEVESY (1942)
Kgl. Danske Videnskab. Selskab.
Biol. Medd. XVII, 8
(zitiert bei DALE, 1950)

14. FERROUX, R., C. REGAUD u. N. SAMSSONOW (1938)
Effects des rayons de roentgen administrés sans fractionnement de la dose, sur les testicules du rat au point de vue de la stérilisation de l'épithélium séminal.
Compt. rend. soc. biol. 128, 170 - 173

15. FOGG, L. C., u. R. F. COWING (1951)
The changes on cell morphology and histochemistry of the testis following irradiation and their relation to other inducted testicular changes.
Cancer Res. 11, 23 - 28

16. FORSSBERG, A. (1946)
The action of roentgen rays on the enzyme catalase.
Acta radiol. 27, 281 - 293

17. FRIEBEN (1903)
Hodenveränderungen bei Tieren nach Röntgenbestrahlung.
Münch. med. Wschr. 50, 2295

18. FRITZ-NIGGLI, H. (1959)
Strahlenbiologie, Grundlagen und Ergebnisse.
Verl. Thieme, Stuttgart

19. GRAUL, E. U. (1957)
Strahlensyndrom - radioaktive Verseuchung.
Schriftenreihe über zivilen Luftschutz.
Verl. Ebeling, Koblenz

20. GRAUL, E. H., u. L. RAUSCH (1959)
Kleines ABC der Nuclearmedizin.
J. F. Lehmanns Verl., München

21. HEITE, H. J.
Statistische Rechenblätter.
Haensel & Co. KG, Schlitz (Hessen)

22. HELLER, M. (1948)
The testis in histopathology of irradiation from external and internal sources.
National Nuclear Energy Series, Div. IV, Vol. 221, Chap. 12.
Mc Craw-Hill Book Comp., INC, New York

23. HENSHAW, P. S..(1938)
The action of x-rays nucleated and non-nucleated egg fragments.
Amer. J. Cancer 33, 258 - 264

24. HERTWIG, P. (1938)
Die Regeneration des Samenepithels der Maus nach Röntgenbestrahlung unter besonderer Berücksichtigung der Spermatogonien.
Arch. exper. Zellforsch. 22, 68 - 73

25. HOLLAENDER, A. (1958)
Somatic effects of low-intensity radiation and different levels of biological organisation.
Symposium über schädliche Wirkungen schwacher Strahlendosen.
Schweizerische Akademie der Med. Wissenschaften, 27. - 29. März 1958, Lausanne

26. LATARJET, R. (1950)
Some factors influencing cell radiosensivity by acting at the level of the primary biochemical action
Symposium on Radiabiology, 241 - 258
John Wiley & Sons, INC, New York

27. LEA, D. E. (1946)
Actions of radiations on living cells.
Cambridge, University Press

28. MITCHELL, J. S. (1942)
Brit. J. Exptl. Path. 23, 285, 296, 309
(zitiert bei DALE, 1950)

29. NEBEL, B. R., u. C. J. MURPHY (1960)
Damage and recovery of mouse testis after 1000 r acute localized x-irradiation with reference to restitution cells, Sertoli cell increase, and typ A-spermatogonial recovery.
Radiation Res. 12, 626 - 641

30. OAKBERG, E. F. (1955)
Sensivity and time of spermatogonic cells irradiated in various stage of maturation in the mouse.
Radiation Res. 2, 369 - 391

31. PATT, H. M. u. Mitarbeiter (1949)
Science 110, 213
(zitiert bei BARRON, 1950)

32. RAJEWSKY, B. (1957)
Wissenschaftliche Grundlagen des Strahlenschutzes.
Verl. G. Braun, Karlsruhe

33. REGAUD, Cl., u. J. BLANC (1906)
Action des rayons x sur les diverses générations de la lignée spermatique. Extrême sensibilité des spermatogonies à ces rayons.
Compt. rend. soc. biol. 58, 163 - 165

34. SCHINZ, H. R., u. B. SLOTOPOLSKY (1925)
Der Röntgenhoden.
Erg. med. Strahlenforschung 1, 443 - 526

35. SCHINZ, H. R. (1958)
Symposium über schädliche Wirkungen schwacher Strahlendosen.
Schweizerische Akademie der Med. Wissenschaften, 27. - 29. März 1958, Lausanne

36. SCHWARZ, G. (1924)
Biologische und histologische Untersuchungen zur Frage der Dosisverteilung bei Geschwülsten.
Verh. D. Röntg. Ges. 15, 131 (zit. bei SCHINZ u. SLOTOPOLSKY,1925)

37. SHAVERS, S. L. (1953)

X-irradiation injury and repair in the germinal epithelium of the rats.

Amer. J. Anat. 92, 391 - 432

38. SLOTOPOLSKY, B., u. H. R. SCHINZ (1925)

Histologische Hodenbefunde bei Sexualverbrechern.

Virch. Arch. 1925
(zitiert im Röntgenhoden)

39. SPALDING, J. F.; WELLNITZ, J. M., u. W. H. SCHWEITZER (1957)

Effects of rapid massiv doses of gamma-rays on the testis and germ cells of the rat.

Radiation Res. 7, 65 - 70

40. SPEAR, F. G. (1953)

Radiations on living cells.

John Wiley & Sons, INC, New York

41. VELDEN, K. (1962)

Vital-zytologische und histometrische Untersuchungen des samenbildenden Epithels von Ratten nach unterschiedlichen Ganzkörper-Röntgenbestrahlungen.

Vet.-med. Inaug.-Diss. FU Berlin

42. WATTENWYL, H. v., u. C. A. JOEL (1941)

Die Wirkungen der Röntgenstrahlen auf den Rattenhoden. 1. - 3. Mitteilung.

Strahlentherapie 70, 160 - 183, 499 - 521; 588 - 631

43. WATTENWYL, H. v., u. C. A. JOEL (1943)

Die Wirkung der Röntgenstrahlen auf den Rattenhoden. 4. Mitteilung.

Strahlentherapie 72, 62 - 92

44. WEBER, E. (1956)

Grundriß der biologischen Statistik.

Verl. Fischer, Jena

45. WORSECK, M., u. I. HEMLEP (1957)

Überblick über die biochemische und bakterielle Strahlenwirkung.

Arch. Lebensmittelhyg. 8, 201 - 206.

Herrn Professor Dr. H. J. H e i d r i c h danke ich an dieser Stelle für die Auswahl des Themas.

Zu besonderem Dank bin ich Herrn Oberassistenten Dr. J. H u h n verpflichtet, der mir jederzeit Anregungen gab, wertvolle Ratschläge erteilte und die Mikrofotografie anfertigte.

Herrn Dr. K o l b vom Institut für Tierzucht und Erbpathologie der Freien Universität Berlin möchte ich für die Überlassung der Versuchstiere danken.

Auch Fräulein K l e i n , die mir bei der Anfertigung der histologischen Präparate behilflich war, gilt mein Dank.

L e b e n s l a u f

Am 10. Mai 1936 wurde ich als Sohn des Diplom-Handelslehrers Werner Frahm und dessen Ehefrau Hildegard geborene Sieloff in Berlin geboren.

Nach 8jähriger Volks- und Mittelschulausbildung wechselte ich zur Friedrich-Engels-Schule in Berlin-Reinickendorf über, deren sprachlichen Zweig ich bis zum Abitur im Jahre 1956 besuchte.

Zum Sommersemester 1956 ließ ich mich an der Wirtschafts- und Sozialwissenschaftlichen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikulieren und wurde für das erste Semester zur Ableistung eines betriebswirtschaftlichen Praktikums beurlaubt. Während des darauffolgenden Semesters entschloß ich mich, meinen langgehegten Wunsch, Tierarzt zu werden, zu verwirklichen. Zum Sommersemester 1957 wechselte ich die Fakultät. Die tierärztliche Vorprüfung bestand ich im Mai 1959 und beendete das Studium mit dem Staatsexamen im April 1962. Alle neun Semester studierte ich an der Freien Universität Berlin, wo ich auch meine Praktikantenzeit an der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten ableistete.

Anschließend war ich fünf Monate lang Assistent in einer Großtierpraxis und bin jetzt am Institut für Tierzucht, Vererbungs- und Konstitutionsforschung der Ludwig-Maximilians-Universität in München tätig.